

## OTKA ZÁRÓJELENTÉS

Témaszám: 042972

Cím: Összehasonlító fiziomorfológiai és termodinamikai vizsgálatok boglárkalepke-félék (Insecta, Lepidoptera, Lycaenidae) monofiletikus és nem monofiletikus fajcsoportjainak pikkelyein, különös tekintettel a diszkoloráció konvergens jelenségére

Témavezető: Bálint Zsolt, Magyar Természettudományi Múzeum

## Bevezető

Kutatásaink célja elsősorban a Lepkék rendje (Lepidoptera) egyik fontos bélyegének, a hártás szárnyakat borító pikkelyek és pikkelyrétegek szerepének tanulmányozása. Bár a pásztázó elektron mikroszkóp (SEM) egyre szélesedő használatával a kilencvenes években nagy vonalakban feltárássra került a lepkék pikkelyeinek mikro szerkezete és egy részük esetében az általuk generált fizikai jelenségek is kutatás homlokterébe kerültek, a tudomány adós maradt azzal hogy ezek a szerkezetek és különféle optikai jelenségek miképpen kerülnek alkalmazásra a lepkék által és van-e valamiféle erre visszavezethető összefüggés a különféle monofiletikus csoportok között.

A fentiek ismeretében a OTKA által támogatott témánk célkitűzéseiben a következők megközelítésekkel számolhattunk újdonságként: (1) A pikkelyek vizsgálata során nanométer tartományba szállunk alá. (2) A pikkelyek szerkezetét nem csupán két, hanem komplex módon három dimenzióban is megpróbáljuk feltárni. (3) A pikkelyek vizsgálatát egy bizonyítottan monofiletikus egységre összpontosítjuk, így a mikro- és nano szerkezeti változásokat és azok szerepét a vizsgált organizmusok esetében különféle hipotézisekkel próbáljuk magyarázni és azokat kísérleti módon, vagy pedig mérésekkel igazolni és (4) a háromdimenziós szerkezetek feltárása során bizonyos szerkezeti színeket generáló architektúrák fizikai jellemzőit igyekszünk a legmélyebbre hatóan megérteni, modellezni és az eredményeket az alkalmazott kutatások irányából értékelni.

Már a kutatás első eredményeinek publikálása előre vetítette (lásd publikációs jegyzék), hogy a kutatásokban hazai kollégákon túl külföldiek is be fognak kapcsolódni. Európán túli együttműködést a pontos terepi megfigyelések szükségessége, illetve újabb anyagok beszerzése. Ezért miközben kiszélesedett az MTA-MFA részéről is a kutatógárda, más hazai intézményekben és európai országokban aktív fizikus kollégák is bekapcsolódtak a kutatásokba. Ezt tükrözi a publikációs jegyzékben olvasható változatos szerzői névsor. Mindezek körülmények a program eredeti munkatervét csupán annyiban befolyásolták, hogy bizonyos csoportokat a tervezettnél sokkal intenzívebben vizsgáltunk. Mindezeknek költségvetési vonzata nem volt, viszont a jelentős mértékben kiszélesedett együttműködés lehetővé tette 2005 végén egy Európai Unió pályázat megnyerését (EU-6, NEST/PATHFINDER Project 12915 BIOPHOT). Az OTKA témában kutató két hazai intézmény ebben teljes jogú partnerként vesz részt.

Egyes eredményeinket széles körben ismertette a média. Megemlíthjük a Science (USA) és a New Scientists (UK) folyóiratokat, továbbá a hazai állami televíziós csatorna által sugárzott Delta Tudományos Hírmagazint és a Magyar Örökség díjas Természet Világa tudományos ismeretterjesztő folyóiratot. Ezek az interneten is hozzáférhetők, néhány fontosabb tudományos eredményünkkel együtt (lásd [www.mfa.kfi.hu/int/nano/](http://www.mfa.kfi.hu/int/nano/) és [www.mfa.kfi.hu/int/nano/magyarul.html](http://www.mfa.kfi.hu/int/nano/magyarul.html)).

## Eredmények

*Egy monofília szerkezeti színeket generáló mikro- és nano struktúráinak feltárása és leírása*

Három, a Lycaenidae alcsaládban monofiliát képviselő alcsalád (Lycaeninae = Lángszinérformák, Polyommata = Boglárkaformák és Theclinae = Farkrópérformák) 52 képviselőjének pikkelyeit megvizsgálva kimutattuk, hogy egyes ágazatok (fajcsoportok,

génuszok és tribuszok) pikkely mikro- és nano struktúráikat tekintve konzervatívnak bizonyulnak.

Így a Lángszinérformák esetében az igen alacsony hosszanti gerincek és keresztbordák közötti ablakok kitöltöttsége nagyarányú, a pikkely testét többrétegű szerkezet tölti ki. A Boglárkaformák hosszanti gerincei magasabbak a kereszt bordák U-alakúak és az ablakok nyitottak, és a pikkely testben úgynevezett szivacsos „pepper-pot szerkezetet” figyelhető meg. A Farkröpérformák esetében V-alakú hosszanti gerincek az előző két alcsaládhoz képest magasak, a kereszt bordácskák V-alakúak, az ablakok mélyén ablakocskák nyílnak, és magában a pikkelytestben nagy rendezettséggel elhelyezkedő nanoszerkezet bújik meg. Csupán a Lángszinérformák esetében tudtuk kimutatni, hogy bizonyíthatóan modern képviselőik a Boglárkaformákra jellemző szivacsos szerkezetek használatára térnek át.

A világon elsőként mutattuk ki és publikáltuk, hogy egy-egy Lycaenidae monofiletikus csoport pikkelystruktúráit tekintve relatíve homogén, a strukturális színek sokrétűségét egy-egy ilyen csoporton belül nanoméretű változások indikálják, amelyek relatíve könnyen megvalósíthatók és nem kívánnak komoly genetikai változásokat, mivel struktúrák egy rögzödött minta szerint képződnek az embrionális fejlődés folyamán. Ezek a struktúrák inverz opál elven alapuló fotonikus kristályként működnek.

#### *A diszkoloráció jelenségének mikro- és nano-morfológiája különböző ágazatokban*

A diszkoloráció jelenségét kimutattuk nemcsak az északi, hanem a déli féltekéről is (Lángszinérformák : monofiletikus fajcsoportok és testvércsoport párok az Andokból; Boglárkaformák monofiletikus fajcsoportok és testvércsoport párok az Andokból és eurázsiai magashegységekből). Megállapítottuk, hogy a vizsgált esetek mindegyikében a pikkelyek mikrostruktúrája azonos: egyfajta hálószerkezet, amit viszonylag magasabb hosszanti gerincek és alacsonyabban húzódó keresztbordák alkotnak.

A világon elsőként bizonyítottuk és publikáltuk, hogy a diszkolorációt a szerkezeti színekkel rendelkező fajok pikkelytestében a réteges, illetve a szivacsos architektúra hiánya eredményezi. A kétrétegű és minőségében különböző nanoszerkezetű pikkelyrétegeket (egyrészt a strukturális színeket generáló fedőréteg, másrészt az erősen pigmentált és strukturális színeket generáló nanostruktúrákkal nem rendelkező alapréteg) ez a hiány homogénné teszi, és a fedőréteg is az alapréteggel azonos (hálós) szerkezetűvé válik. Az alaprétegben nagy mennyiségben jelen levő színtest adja a saját szerkezetéből fakadó színt, ami a Farkröpérformák esetében narancssárga (feltehetően karotin), a Boglárkaformák esetében barna (melanin).

#### *Fotonikus kristály elven működő szerkezetek szerepe a lepkék hőháztartásában*

A diszkoloráció jelenségét megpróbáltuk azzal a hipotézissel magyarázni, miszerint a nagyobb tengerszint feletti magasságokban élő fajok hőkezelése szükségképpen eltér az alacsonyabb területeken élőkétől. Ezt a morfológiai megközelítést azzal támasztotta alá, hogy a diszkolorált fajok (narancssárga, barna) esetében az alapréteg pikkelyeinek testében nagy mennyiségben jelen levő erősen abszorbáló pigmentet a napfény közvetlenül eléri. A nem diszkolorált (kék, lila, vörös vagy zöld) fajok fedőpikkely rétege a fényaláb fotonjainak egy részét nem engedik az alappikkely rétegig, hanem visszadobják a pikkelytestben jelen levő fotonikus kristály elv alapján működő szerkezetek segítségével.

Termikus mérésekkel igazoltuk egy testvérfajpár esetében (hegyvidéki diszkolorált barna: *Polyommatus marcidus*; síkvidéki nem diszkolorált kék: *Polyommatus daphnis*), hogy

a barna és a kék szárnyfelszínek felmelegedése azonos körülmények között jelentős mértékben eltér a *P. marcidus* javára 1 : 1.3-1.5 arányban. További Lycaenida fajokon végeztünk méréseket, amelyek rámutattak a két pikkelyréteg komplex szerepére a különböző termikus folyamatok során.

A világon elsőként bizonyítottuk és publikáltuk, hogy a lepkék hártvás szárnyain elhelyezkedő pikkelyek milyen módon kaphatnak szerepet az egyedek hőháztartásában.

#### *Különböző monofiletikus lepkecsoportok optikai tulajdonságai és részbeni alkalmazásuk taxonómiai revíziók során*

Az általunk vizsgált monofília (Boglárkaformák – Farkröpérformák – Lángszinérformák) esetében jól ismert az a nehézség, amikor közel rokon taxonokat próbálnak olyan karakterek alapján rendszerezni, amelyek különféle morfológiai tulajdonságok, elsősorban ivarszervi struktúrák elemzésén alapulnak. Vizsgált csoportjainkban az ivarszervek felépítése igen hasonló, gyakorlatilag taxonómiai szempontból nem vagy csak nehezen alkalmazhatók.

Kísérletek és megfigyelések igazolták, hogy a nappali lepkék szárnyainak felszínén levő strukturális színeket az egyedek olyan szignálokra használják, amelyek az ivarak közötti kommunikációt segítik. Erre alapoztuk azt az új hipotézist, hogy a kissé eltérő árnyalatú de hasonló színű fajok optikai tulajdonságai különbözőek. Ezért az azonos színű közelrokon fajok nem repülnek együtt és a hímek és a nőstények optikai tulajdonságai is fajspecifikusak. Ennek alapján feltételezzük, hogy a nappali lepkék esetében a szerkezeti színek szerepe az egyedek különféle mikrohabitat választása és a populáció struktúrája szempontjából elsődleges. Ebből következik, hogy bizonyos optikai tulajdonságokat taxonómiai bélyegként is lehet alkalmazni.

Méréseink a fenti hipotézisünket teljes mértékben igazolták. Az óvilági erdősztyepp fajokat magában foglaló *Polyommatus* génusz-csoport és az Andok (Újvilág) köderdei *Penaincisalia* génusz-csoport fajait vizsgáltuk behatóbban. Mindkét taxonnál bebizonyosodott, hogy bár a közelrokon fajok szárnyainak felszíne valóban hasonló, de spektroszkópiával számszakilag jól kifejezhető és állandó különbségek mutathatók ki rajtuk. Az egy időben és egy helyen előforduló közel rokon és hasonló életmódú fajok színe különböző, a monofiletikus csoportok kvantitatív, a testvér-csoportok vagy távolabbi rokonok kvalitatív módon is eltérnek egymástól.

Több taxonómiai hipotézist (fajleírást és generikus revíziót) is a hagyományos bélyegek alkalmazása mellett a világon elsőként optikai karakterekkel támogattunk, illetve a disszkusziókban kitértünk ezekre. Hipotéziseink szerint a lepkepikkelyekben a nanoméretű szinten zajló változás nemcsak egyedi és populációs szinten tényező, hanem fontos fajképződési mechanizmus, aminek segítségével az adott monofília (fajcsoport, génusz, vagy esetleg egy tribusz) új területeket képes kolonizálni.

#### *Szerkezeti színek feltárása és azok szerepe*

A fenti hipotézis antitéziseként jött létre az a hipotézisünk, hogy a fonákon kialakuló szerkezeti szín optikája fajtól és ivartól független, mivel ennek szerepe nem specifikus szignál, hanem a rejtőzködés vagy utánzás, ami nem faji (specifikus) bélyeg, hanem egyfajta közös (univerzális) nyelv. Megvizsgáltuk a dél-amerikai Lángszinérforma *Cyanophrys* génusz öt képviselőjét, amelyek szárnyainak felszíne felül csillogó kék, fonákja matt zöld.

A szárnyak felszíne a fentiekben ismertetett optikai jellemzőket mutatta: a hímek és a nőstények spektroszkópiája faji és ivari szinten specifikusságot mutat, míg a fonákok

spektroszkópikus jellemzője azonos. Komolyabb vizsgálat alá vettük a *C. remus* faj micro- és nanomorfológiáját, illetve a pikkelytestben lévő architektúrák színeképző mechanizmusát.

A témához kapcsolódóan megvizsgáltuk az *Albulina metallica* magashegyi fajt és morfológiáját, optikáját és termodinamikáját összevetettük a *C. remus*-szal. Morfológiájukat feltártuk, leírtuk és kimutattuk a fotonikus kristály elven működő szerkezeteket.

A világon elsőként bizonyítottuk és publikáltuk, hogy egy lepkefaj szárnyainak pikkelyzetében jelen lehetnek a hosszú távú rendezettséget mutató többkristályos és a rövidtávon rendezett egykristályos fotonikus szerkezetek, amelyek funkciója különböző és azt, hogy egy vagy többkristályos szerkezetek kerülnek-e alkalmazásra nagyrészt meghatározza a funkció és a környezet. Így például mind az *A. metallica*, mind pedig a *C. remus* hímek szárnyaik felszínén szexuális szignálokra hosszú távon rendezett többkristályos architektúrákat alkalmaznak, fonákjukon (a környezeti viszonyoknak megfelelően) az *A. metallica* a felszínhez hasonló többkristályos (nyílt fényben gazdag magashegyi rét), míg a *C. remus* egykristályos szerkezeteket (árnyékos, fényben szegény erdőszegély).

### Tudományos publikációs jegyzék

1. Biró, LP; Bálint, Zs; Kertész, K; Vértessy, Z; Márk, GI; Horváth, ZE; Balázs, J; Méhn, D; Kiricsi, I; Lousse, V; Vigneron, JP 2003. Role of photonic-crystal-type structures in the thermal regulation of a Lycaenid butterfly sister species pair. *Physical Review E* 67: 021907-1-7.
2. Vértessy, Z; Bálint, Zs; Kertész, K; Méhn, D; Kiricsi, I; Lousse, V; Vigneron, JP; Biró, LP; 2004. Modifications to Wing Scale Microstructures in Lycaenid Butterflies. *Microscopy and Analysis, Bookham* 18(4): 25-27, 5 figs.
3. Bálint, Zs; 2004. Notes on certain high Andean orange eumaeine lycaenids with the description of a new species from Peru (Lepidoptera: Lycaenidae: Eumaeini). *Annales historico-naturales Musei nationalis hungarici, Budapest* 96: 259-270, 14 figs.
4. Bálint, Zs; Vértessy, Z; Biró, LP; 2005. Micro- and nanostructures of high Andean Penaincisalia eumaeine lycaenid butterfly scales (Lepidoptera: Lycaenidae): descriptions and interpretations. *Journal of Natural History* 39(31): 2935-2952.
5. Bálint, Zs; 2005. A review of the Neotropical hairstreak genus Annamaria with notes on further genera (Lepidoptera: Lycaenidae). *Annales historico-naturales Musei nationalis Hungarici* 97: 109-143.
6. Vigneron, JP; Lousse, V; Biró, LP; Vértessy, Z; Bálint, Zs; 2005. Reflectance of topologically disordered photonic-crystals films, pp 308-314. In: Adibi, A., Lin, S.-Y. & Scherer, A., eds, *Photonic Crystal Materials and Devices III*. Proceedings of SPIE Vol. 5733.
7. Bálint, Zs; 2005. Systematic and taxonomic notes on Neotropical hairstreak lycaenids in connection to the genus Megathecla (Lycaenidae: Theclinae: Eumaeini). *Boletín Científico de Historia Natural, Caldas* 9: 278-294.
8. Kertész, K; Bálint, Zs; Vértessy, ZE; Márk, GI; Lousse, V; Vigneron, JP; Biró, L.P; 2006. Photonic crystal type structures of biological origin: structural and spectral characterization. *Current Applied Physics* 6: 252-258.
9. Bálint, Zs; Wojtusik, J; 2006. Contributions to the knowledge of Neotropical Lycaenidae – reinstating names of three recently described species and description of a new one (Lepidoptera: Eumaeini). *Genus, Wrocław* 17: 273-282.

10. Bálint, Zs; Wojtusiak, J. 2006. Notes on the genus *Podanotum* with description of a new species (Lepidoptera: Lycaenidae: Eumaeini). *Genus, Wroclaw* **17**: 283-289.
11. Kertész, K; Bálint, Zs; Vértesy, Z; Márk, GI; Lousse, V; Vigneron JP; Rassart, M ; Biró LP; 2006. Gleaming and dull surface textures from photonic-crystal-type nanostructures in the butterfly *Cyanophrys remus*. *Physical Review E* **73**: 021922-1-15.
12. Bálint, Zs; Boyer, P; Dahners, H; Salazar-Escobar, JA; Kertész, K; 2006. Comments on systematics and natural history of *Aveexcrenota*, a rare Andean eumaeine Lycaenidae (Lepidoptera). *Acta zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae* **52**: 331-352.
13. Bálint, Zs; Kertész, K; Wojtusiak, J; 2006. The description of *Atlides halljasoni* n. sp. from Ecuador and its spectrographic characterization with some notes on the genus (Lepidoptera: Lycaenidae: Eumaeini). *Genus, Wroclaw* **17**: 409-415.
14. Bálint, Zs; Dahners, H; Wojtusiak, J; 2006. A review of *Rhamma bilix* Draudt with description of the male phenotype (Lepidoptera: Lycaenidae: Eumaeini). *Genus, Wroclaw* **17**: 417-425.
15. Vértesy, Z; Bálint, Zs; Kertész, K; Vigneron, JP; Lousse, V; Biró, LP; 2006. Wing scale microstructures and nanostructures in butterflies – natural photonic crystals. *Journal of Microscopy* **224**: 108-110.
16. Bálint, Zs; Dahners, H; 2006. *Beatheclus beatrizae*, a new eumaeine genus and species from Colombia (Lepidoptera: Lycaenidae: Eumaeini). *Folia entomologica hungarica* **67**: 135-153.
17. Bálint, Zs; Boyer, P; Wojtusiak, J; 2006. Contributions to the knowledge of Neotropical Lycaenidae: Notes on *Abloxurina* with the description of five new species (Lepidoptera: Theclinae: Eumaeini). *Genus, Wroclaw* **17**: 571-584.
18. Bálint, Zs; Wojtusiak, J; 2006. Contributions to the knowledge of Neotropical Lycaenidae: Notes on *Thecloxurina* with the description of three new species (Lepidoptera: Theclinae: Eumaeini). *Genus, Wroclaw* **17**: 585-600.
19. Berthier, S; Boulenguez, J; Bálint, Zs; 2007. Multiscaled polarization effects in *Suneve coronata* (Lepidoptera) and other insects: application to anti-counterfeiting of banknotes. *Applied Physics A* **86**: 123-130.
20. Biró, LP; Bálint, Zs; Vértesy, Z; Kertész, K; Márk, GI; Lousse, V; Vigneron, JP; 2006. Living Photonic Crystals: Nanostructure of the Scales of *Cyanophrys Remus* Butterfly. *Nanopages, Budapest* **1**: 195-208.
21. Biró, L. P; Kertész, K; Vértesy, Z; Márk, GI; Bálint, Zs; Lousse, V; Vigneron, JP; 2007. Living photonic crystals: Butterfly scales – Nanostructure and optical properties. *Material Science and Engineering C*: megjelenés alatt (published online 15. October 2006).
22. Bálint, Zs; Boyer, P; Kertész, K; Biró, LP; 2007. Observations on the spectral reflectances of certain high Andean *Penaincisalia* and *Thecloxurina*, with the description of a new species (Lepidoptera: Lycaenidae: Eumaeini). *Journal of Natural History* **40** (kézirat elfogadva publikálásra).
23. Bálint Zs; Horváth, Zs; Kertész, K; Vértesy Z; Biró LP; 2007. Obseravtions on scale structures and spectroscopic properties of *Polyommatus* butterflies (Lepidoptera:

Lycaenidae: Polyommagini). *Annales historico-naturales Musei nationalis hungarici* **99** (kézirat leadva).

#### Kéziratok

24. Bálint Zs; Horváth, Zs; Kertész, K; Vértesy, Z; Biró, LP. Biological explanations of *Cyanophrys* spectroscopic properties. 25 pp, 15 figs.
25. Bálint Zs; Horváth, Zs; Kertész, K; Vértesy, Z; Biró, LP. Discoloration in high Andean Polyommagini: micro- and nanomorphological analysis. 15 pp, 10 figs.
26. Bálint Zs; Horváth, Zs; Kertész, K; Vértesy, Z; Biró, LP. The scale morphology and spectroscopy of *Lycaena heteronea*: new applications for invading novel habitat type. 10 pp, 5 figs.
27. Kertész, K., Vértesy Z., Bálint Zs; Biró LP. Thermal characterizations of certain lycaenid butterflies with matt and metallic structural wing surface colours. 15 pp, figs.

Budapest, 2007. február 28.